FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Amyloid A
Clon mc1
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Nº de catálogo IS605

Uso previsto

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Amyloid A, Clon mc1, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus. Este anticuerpo marca el amiloide A (AA) en tejidos y resulta útil para la identificación y clasificación de la amiloidosis AA (1). La interpretación de los resultados de cualquier tinción o su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Se denomina amiloidosis a un grupo de enfermedades que tienen en común el depósito extracelular de proteínas fibrilares con una conformación bioquímica específica, conocida como láminas plegadas ß. Se han identificado aproximadamente 20 proteínas precursoras diferentes que se pueden depositar como fibrillas amiloides (2). Las proteínas amiloides depositadas en los tejidos se pueden identificar en una tinción con rojo Congo y clasificarse químicamente mediante estudios de secuenciación de aminoácidos, inmunohistoquímica o inmunocitoquímica (1).

El amiloide A (AA) es una proteína fibrilar insoluble depositada extracelularmente, muy resistente a la degradación proteolítica y producida a partir de la proteína precursora, el amiloide sérico A (SAA) (2). Antes de poder programar un tratamiento de una posible enfermedad amiloide, debe asegurarse tanto la presencia del amiloide como su origen químico (3).

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: 1) Principio del procedimiento, 2) Material necesario pero no suministrado, 3) Almacenamiento, 4) Preparación de la muestra, 5) Procedimiento de tinción, 6) Control de calidad, 7) Solución de problemas, 8) Interpretación de la tinción, 9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

Anticuerpo monoclonal de ratón listo para usar suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/L de azida de sodio.

Clon: mc1 (4, 5). Isotipo: IgG2a, kappa.

Inmunógeno

Una mezcla equivalente de amiloide A humano unido a peroxidasa de rábano y amiloide A humano unido a quininógeno de alto peso molecular (5).

Especificidad

En un ensayo micro-ELISA, el anticuerpo reacciona con el amiloide A y con el precursor sérico del amiloide A, lo que indica una reactividad cruzada entre la proteína amiloide A y el precursor sérico del amiloide A. Por el contrario, no se observa reactividad con otras proteínas fibrilares amiloides no AA o con proteínas séricas humanas, como la albúmina, la transferrina y la IgG (4, 5).

Según se demuestra mediante inmunohistoquímica en cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina, el anticuerpo marca los tejidos de pacientes AA, pero no muestra reactividad alguna con un huésped de antígenos desconocidos en cortes de tejido de diversos órganos (5), ni con los tipos amiloides Aκ, Aλ y con las proteínas fibrilares amiloides en la polineuropatía amiloide familiar y la amiloidosis cardiovascular senil, respectivamente. De igual forma, el anticuerpo no marca las placas amiloides de Alzheimer, los amiloides en la microangiopatía, el liquen amiloide, ni los islotes de Langerhans seniles (5-7).

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida sódica (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificado como peligroso, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto derivado de fuentes biológicas, deberán aplicarse procedimientos adecuados de manejo.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución no utilizada debe desecharse con arreglo a las normativas locales, provinciales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 ℃. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario debe comprobarlas. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no pueda ser explicada por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospeche un problema con el anticuerpo, comuníquese con la Asistencia Técnica de Dako.

Preparación de las muestras incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

K8010/K8004).

Cortes incluidos en parafina: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Siga el procedimiento previo al tratamiento explicado en el prospecto de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004). Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Cortes desparafinados: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes incluidos en parafina. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (nº de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software de los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus usando los siguientes protocolos.

Plantilla del protocolo: FLEXRTU2 (volumen de aplicación 200 µL) o FLEXRTU3 (volumen de aplicación 300 µL)
Autoprogram: AmA (sin contratinción) o AmAH (con contratinción)

El paso Auxiliar debe configurarse a "tampón de enjuague" en sesiones de tinción con ≤10 portaobjetos. En el caso de sesiones de tinción con > 10 portaobjetos, el paso Auxiliar debe configurarse a "ninguno". De esta manera se aseguran tiempos de lavado semejantes.

Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente. Consulte el Manual del usuario para más detalles sobre el instrumento correspondiente. Si todavía no están disponibles los protocolos en el instrumento Dako Autostainer utilizado, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el rendimiento del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en "Características de resultados".

Se recomienda la contratinción en hematoxilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8018). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El tejido de control positivo debe incluir riñón con amiloidosis, y las células/estructuras deben exhibir patrones de reacción como se describe para este tejido en "Características de resultados" en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo IS750).

Interpretación de la tinción

El amiloide A marcado por el anticuerpo se localiza extracelularmente la mayoría de los casos.

Características de resultados

Tejidos normales: el anticuerpo no marca el tejido normal (5). No obstante, en ocasiones el anticuerpo marca el suero.

Tejidos anormales: el anticuerpo marca el amiloide A en biopsias renales y rectales de pacientes con enfermedad inflamatoria pediátrica (1). También se marcan los tejidos de pacientes con un diagnóstico clínico de artritis reumatoide, síndrome de Muckle-Wells esporádico, polineuritis idiopática, amiloidosis idiopática, fiebre mediterránea familiar y enfermedad de Still (5). En el riñón, las células de músculo liso grandes con depósitos de amiloide A muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte, mientras que las membranas basales de los glomérulos renales con depósitos de amiloide A muestran una reacción de tinción de débil a moderada.

Referencias bibliográficas

1. Linke RP, Gärtner HV, Michels H. High-sensitivity diagnosis of AA amyloidosis using Congo Red and immunohistochemistry detects missed amyloid deposits. J Histochem Cytochem 1995;43:863-9.
2. Sipe JD, Cohen AS. History of the amyloid fibril [review]. J Struct Biol 2000;130:88-98.
3. Linke RP. Highly sensitive diagnosis of amyloid and various amyloid syndromes using Congo red fluorescence. Virchows Arch 2000;436:439-48.
4. Linke RP. Identification of amyloid protein AA with a monoclonal antibody. Blut 1982;45:407-9.
5. Linke RP. Monoclonal antibodies against amyloid fibril protein AA. Production, specificity, and use for immunohistochemical localization and classification of AA-type amyloidosis. J Histochem Cytochem 1984;32:322-8.
6. Linke RP. Identification of AA-type amyloid in tissue sections using monoclonal antibodies. In:Peeters H, editor. Protides Biol Fluids. Oxford: Pergamon Press; 1983. p. 835-8.
7. Linke RP, Nathrath WBJ, Eulitz M. Classification of amyloid syndromes from tissue sections using antibodies against various amyloid fibril proteins: report of 142 cases. In: Glenner CG, Osserman EF, Benditt EP, Calkins E, Cohen AS, Zucker-Franklin D, editors. Amyloidosis. Amsterdam: Plenum Publishing Corporation; 1986. p. 599-605.

Explicación de los símbolos

REF	Referencia	2°C 8°C	Limitación de temperatura		Fecha de caducidad
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	Σ	Contiene suficiente para <n> ensayos		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso	LOT	Código del lote		

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17